Med 61

Aus der Universitäts-Hautklinik Hamburg-Eppendorf
Direktor: Professor Dr. Dr. J. Kimmig

Untersuchungen zur Frage der Penicillinresistenz von Neisseria Gonorrhoeae

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Zahnmedizinischen Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von
Ingeborg Bäätjer
aus Hamburg

Hamburg 1962

Aus der Universitäts-Hautklinik Hamburg-Eppendorf
Direktor: Professor Dr. Dr. J. Kimmig

Untersuchungen zur Frage der Penicillinresistenz von Neisseria Gonorrhoeae

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Zahnmedizinischen Doktorwürde
der Medizinischen Fakultät der Universität Hamburg

vorgelegt von
Ingeborg Bäätjer
aus Hamburg

Hamburg 1962

Angenommen von der Medizinischen Fakultät der
Universität Hamburg am 7. 3. 1962

Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen
Fakultät der Universität Hamburg

Dekan: Professor Dr. Lualorny

Referent: Prof. Dr. Meyer-Rohn

Korreferent: Prof. Dr. Kimmig

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

I N H A L T S A N G A B E

- Einleitung
- Gonokokkenresistenz
  - --- Vermutliche Gründe für eine Abnahme der Gonokokkensensibilität
  - --- Scheinversager
  - --- Voraussagen über die Entwicklung der Penicillinsensibilität
- Versuchsanordnungen für die Penicillintestreihen
  - --- Die Herkunft der getesteten Gonokokken-Stämme
  - --- Die Nährböden
  - --- Die Identifizierung der Gonokokken
  - --- Der Gang der Versuche
- Die Ergebnisse der Überprüfung der Penicillinsensibilität der Gonokokken
  - --- Die Zahlen der Gonokokken-Stämme,die bei den jeweiligen Konzentrationen total gehemmt wurden
  - --- Mittelwert und Medianwert
  - --- Beschreibung eines außergewöhnlich penicillinunempfindlichen Gonokokken-Stammes
- Ein Vergleich von Versuchsergebnissen aus den Jahren 1945 - 1961
- Das Celbenine (Cinopenil)
  - --- Chemie und Eigenschaften dieses neuen synthetischen Penicillins
- Versuchsanordnungen für die Celbenine testreihen
- Die Ergebnisse der Überprüfung der Celbenineempfindlichkeit der Gonokokken
  - --- Die Zahlen der Gonokokken-Stämme,die bei den jeweiligen Konzentrationen total gehemmt wurden
  - --- Mittelwert und Medianwert
- Vergleich der Grenzkonzentrationen der Penicillintestreihen mit denen der Celbenine testung.

Herrn Professor Dr. Dr. J. Kimmig möchte ich dafür danken, daß ich in dem bakteriologischen Labor der Universitäts-Hautklinik arbeiten durfte.
Herrn Professor Dr. J. Meyer-Rohn danke ich für die mir gestellte Aufgabe und für seine Unterstützung bei der Durchführung der Arbeit.
Für die bereitwillige Einführung in die Laborarbeiten danke ich Herrn W. Liehr.

Meine Aufgabe besteht darin, mit experimentellen Untersuchungen einen Beitrag zu liefern zur Klärung der Frage, wie sich die Empfindlichkeit der Gonokokken gegenüber dem Penicillin-G-Natrium in vitro entwickelt hat und ob eine etwaige Resistenzzunahme mit einer Empfindlichkeitsminderung gegenüber Celbenine, einem halbsynthetischen Penicillin, übereinstimmt.

GONOKOKKENRESISTENZ

Seit etwa 15 Jahren wird das Penicillin-G-Natrium zur Therapie der Gonorrhoe verwandt,und die Frage,ob die Neisseria gonorrhoeae ihren Sensibilitätsgrad diesem Antibioticum gegenüber ändern würde,ist während der ganzen Zeit aktuell gewesen.Die Gründe dafür sind einmal die gesammelten Erfahrungen bei der Sulfonamidtherapie,bei der nach dem Höhepunkt der Erfolge eine Zunahme der Versager und schließlich das Resistentwerden der Gonokokken gegen Sulfonamide beobachtet wurde. Außerdem wurden die Befürchtungen verstärkt durch die Beobachtungen,daß Bakterien,wie z.B. die Staphylokokken, gegen Antibiotica tatsächlich resistent werden können.

Für den Grund einer Abnahme der Gonokokkensensibilität dem Penicillin gegenüber sind verschiedene Vermutungen aufgestellt worden. Schuermann (1) , Marcuse und Hussels (2) nehmen eine Selektionierung von Gonokokken-S tämmen an,die nach einer Spontanmutation als primäre sistent anzusehen sind.
Eine Auslese auf Grund einer Gewöhnung und anschließender V ererbung der erworbenen Eigenschaft wird als weniger wahrscheinlich hingestellt.
Kimmig (3) hat gezeigt,daß die Gewöhnung von Gonokokken-Stämmen an Sulfonamide möglich ist,worauf das Versagen d er Sulfonamidtherapie zurückzuführen ist.
Versuche aber,mit Hilfe von zahlreichen Kulturpassagen die Gonokokken an Penicillin zu gewöhnen,sind fehlgeschlagen. Die Ergebnisse,insbesondere von Meyer-Rohn (4) und Marcuse und Hussels (5),zeigen,daß eine Adaption der Stämme in vitro nicht erfolgt.

Dieses wird auch bestatigt von Gartmann und Knapp (6), die 19 Stämme von Patienten ,die sich mehrmals infizierten, testeten und keine Minderung der Sensibilität nach den Reinfektionen feststellen konnten.
Hämel (7) berichtet zwar von dem Gelingen einer künstlichen Erzeugung penicillin-resistenter Gonokokken. Die Stämme,die durch langsame Eiweißentziehung aus den Nährböden ihren Stoffwechsel auf Kohlenydrate umstellen mußten,sollen sich resistent gezeigt haben sowohl gegenüber Sulfonamiden als auch gegenüber Penicillin.
Daß sich in der Praxis noch nicht eine Resistenz entwickelt hat,erklärt er mit der schlagartigen Wirkung des Penicillins, die den Bakterien nicht die nötige Zeit für eine Adaption gewährt.
Diese durch Züchtung veränderten Gonokokken-Stämme zeigten jedoch eine atypische Zuckervergärungsreihe nach Lingelsheim, und wir sind der Ansicht,daß es sich bei diesen getesteten Stämmen gar nicht mehr um Gonokokken gehandelt haben kann.
Zusammenfassend gibt es also folgende Möglichkeiten für ein Resistentwerden der Gonokokken:
--- das Auftreten von primär-resistenten Stämmen nach einer Spontanmutation,
--- eine Selektionierung der weniger sensiblen Stämme, bei der die empfindlichen vernichtet werden,
--- das Resistentwerden durch Umstellen des Stoffwechsels von Eiweiß auf Kohlehydrate,wobei allerdings ein atypisches Verhalten der Gonokokken auftritt und somit an der Reinheit der Gonokokken-Stämme gezweifelt werden muß.

Von vornherein auszuschalten sind die Scheinversager, die nicht durch Besonderheiten des Gonokokken-Stammes bedingt sind.
In Arbeiten von mehreren Autoren wird daurauf hingewiesen. Danach können die Scheinversager in folgende Gruppen unterteilt werden:

--- in diagnostische Irrtümer, wie vor allem Infektionen mit sogenannten "Pseudogonokokken" aus der Reihe der gramnegativen Diplokokken der Neisseria-Gruppe, die bis 1ooomal unempfindlicher gegenüber Penicillin sein können als die Gonokokken, (Storck, Kinderknecht und Flury (8), K.Hoede und M.Hoede (9), Marchionini und Röckl (1o).)

--- in Reinfektionen, (K.Hoede und M.Hoede (9))

--- in Mischinfektionen mit Penicillinasebildnern, welche die Wirkung des Penicillins entscheidend beeinträchtigen können und einen Erfolg verhindern; die Gonorrhoe heilt aber aus, nachdem die Mischinfektion beseitigt ist, (Gartmann und Knapp (6), Meyer-Rohn und Lehmann (11), Schönfeld und Kimmig (12))

---- in Konstitutionsversager, die meist Resultate falscher Dosierungen sind oder bedingt sind durch pathologisch-anatomische Besonderheiten. (K.Hoede und M.Hoede (9), Marchionini und Röckl (1o))

--- Siebert (13) weist auf Arbeiten von Thayer, Field und Magnuson hin, in denen von Gonokokken berichtet wird, die von Epithelzellen (He La-Zellen) phagozytiert 48 Stunden gegen die bakterizide Kraft des Penicillins geschützt waren.
Meyer-Rohn und Rhode (14) haben das Verhalten phagozytierter Gonokokken in neuester Zeit untersucht. Sie verwandten für

die Phagozytose keine Epithelzellen, sondern Mischkulturen von embryonalen Fibroblasten und Leukozyten, was für die Praxis besonders interessiert. Die Untersuchungen ergaben, daß 5% der Fibroblasten und 30-50% der im Fibroblastengeflecht verstreuten Leukozyten Gonokokken phagozytiert hatten und diese vor der Einwirkung des später zugegebenen Penicillins bewahrten.
Nach Zertrümmerung der schützenden Zellen waren die Gonokokken in dem für sie erforderlichen Milieu wieder lebens- und vermehrungsfähig.
Damit ist eine weitere wichtige Erklärung für das Versagen einer optimalen Penicillintherapie und das Auftreten von Rezidiven gegeben.

Die Voraussagen über die Entwicklung der Penicillinsensibilität der Gonokokken sind verschiedenartig.
Hämel (7) glaubt nicht an eine Resistenzentwicklung, ebenso Ben del Love und M. Finland (15), da jeder ihrer Versuche, bei Penicillinversagern einen penicillinresistenten Stamm als Ursache zu finden, fehlgeschlagen ist.
Auch Marcuse und Hussels (2) schließen aus ihren Experimenten, daß die Penicillintherapie der Gonorrhoe nicht die Enttäuschung bringen wird wie die Sulfonamidbehandlung.
Granits-Thurner (16) entnimmt aus seinen Untersuchungen, daß man zwar von einer echten Resistenz der Gonokokken gegen Penicillin nicht sprechen kann, die Sensibilität jedoch eine stetige, langsame Abnahme zeigt.
Die gleiche Verschiebung in Richtung geringerer Empfindlichkeit wurde von Storck, Kinderknecht und Flury (8) und Schreus und Schümmer (17) beobachtet.
Diese langsame Sensibilitätsabnahme, die auch von Köckl (18)

mit seinen Experimenten bestätigt wird, läßt Schreus und Schümmer befürchten, daß sich unmerklich eine weitere Auslese der unempfindlicheren Stämme entwickelt, ohne daß therapeutische Mißerfolge sichtbar werden.

Unter dem Eindruck dieser Entwicklung wird allgemein eine regelmäßige Kontrolltestung möglichst vieler Fälle bei gleichbleibender Methodik gefordert.

V E R S U C H S A N O R D N U N G F Ü R D I E P E N I C I L L I N T E S T R E I H E N .

Zur Feststellung der momentanen Gonokokkensensibilität dem Penicillin-G-Natrium gegenüber, das uns von den Farbwerken Hoechst AG. in Testflaschen à 1o ooo E zur Verfügung stand, testeten wir 1oo Stämme.
Die Untersuchungen wurden von Januar bis Juli 1961 durchgeführt.
Ein geringer Teil des Materials stammt aus der Universitäts-Hautklinik Eppendorf, die meisten Stämme lieferte die Seemannsfürsorge der Freien und Hansestadt Hamburg.
Es wurde keinerlei Auswahl getroffen, zur Testung kamen alle Gonokokken-Stämme, die in dieser Zeit gezüchtet werden konnten, ohne Rücksicht auf die Vorgeschichten in den Krankenblättern zu nehmen.
Das Material aus der Seemannsfürsorge interessierte uns besonders, da uns von dort berichtet wurde, daß häufig penicillinresistente Stämme beobachtet worden wären.
Wir konnten diese Angaben nicht bestätigen:

für die Abtötung der Gonokokken in vitro war maximal ein Nährmedium mit der Konzentration 0,5 E Penicillin-G-Natrium/ ccm notwendig, alle der Klinik übersandten Patienten konnten stationar mit Penicillin geheilt werden. Wir nehmen an, daß es sich bei den angeblich penicillinresistenten Fällen um Scheinversager, vor allem um Mischinfektionen und Reinfektionen gehandelt hat.

Der Gang der Versuche war folgender:

Das von den Patienten abgenommene Material wurde mit einer ausgeglühten Öse auf einen festen Nährboden in Petrischalen überimpft. Diese wurden 48 Stunden in einem Brutschrank in einem feuchten Milieu bei 37' Celsius und 600 - 650 Torr bebrütet.

Danach wurden Einzelkolonien je nach Notwendigkeit stets nach 48 Stunden fraktioniert auf eine neue Platte ausgestrichen, um die Stämme von Begleitbakterien zu befreien. Nach der Reinzüchtung wurde die übliche Differenzierung des Gonokokken-Stammes vorgenommen, und durchschnittlich nach der 4. Passage konnte die Testreihe im halbflüssigen Nährboden mit fallenden Penicillinkonzentrationen angesetzt werden.

Alle Versuchsanordnungen wurden unter möglichst sterilen Bedingungen vorgenommen.

Als fester Nährboden diente der von Zieler angegebene Ascites-Agar.

Wir stellten einen Agar her mit der Zusammensetzung: 1000 ccm Aqua dest., 10 g Liebigs Fleischextrakt, 10 g Pepton, 5 g NaCl, 22 g Fadenagar.

Der pH-Wert wurde auf 7,7 - 7,5 eingestellt und dem Ganzen 30% Ascites-Flüssigkeit zugegeben.

Auf diesem Nährboden wuchsen die Gonokokken bei der erwähnten optimalen Umgebung in den charakteristischen tautropfenartigen Kolonien, zum Teil auch in Rasenform. Diese Kolonien waren von weicher Konsistenz und ließen sich nicht als Ganzes verschieben.

Bei der Identifizierung der Gonokokken mußten diese folgende Bedingungen erfüllen:

1) Sie mußten das oben beschriebene typische Wachstum auf dem festen Ascites-Agar in dem für sie erforderlichen Milieu zeigen.
2) Die Kolonien mußten sich durch eine Oxydasereaktion schwarz färben bei der Berührung mit einer Paraphenylendiaminlösung. Diese Schwarzfärbung setzte etwa nach 3-5 Minuten nach dem Kontakt mit der Lösung ein.
3) Bei der mikroskopischen Untersuchung des Ausstrichpräparates mußten sich gramnegative Diplokokken zeigen, es durften keine grampositiven Elemente enthalten sein.
4) In der Zuckervergärunsreihe nach Lingelsheim durfte nur die Dextrose, nicht aber die Maltose, Lävulose und Saccharose vergoren werden.
   Für diese Testreihe wurde dem Ascites-Agar 2% einer 0,3%igen Phenolrotlösung als Farbindikator zugegeben, dazu jeweils 1% der entsprechenden Zuckerlösung.
   Der Farbindikator schlug bei einer Zuckergärung durch die Änderung des pH-Wertes von rot in gelb um.
   Durch diesen Test läßt sich die Neisseria gonorrhoeae von den anderen Neisseria-Arten streng unterscheiden.

   (s. Tabelle 1)

Tabelle 1

	Maltose	Dextrose	Lävulose	Saccharose
Neisseria gonorrhoeae	—	+	—	—
" meningitidis	+	+	—	—
" catarrhalis	—	—	—	—
" sicca	+	+	+	+

5) Beim Überimpfen der Kulturen auf einen gewöhnlichen Agar durfte sich kein Wachstum zeigen.

Nachdem sich ein Gonokokken-Stamm als rein erwiesen hatte, wurde er in einen halbfesten Nährboden überimpft, und zwar wurden von verschiedenen Stellen der Platte Kolonien abgenommen, um möglichst viele Resistenzstufen der gesamten Population des jeweiligen Stammes zu erhalten. (Marcuse und Hussels (5))
So stand uns nach einer 48stündigen Bebrütung eine flüssige Kultur zur Verfügung.
Der halbflüssige Nährboden bestand aus einer Traubenzucker-Phenolrot-Bouillon mit den Zutaten 1000 ccm Aqua dest., 10 g Liebigs Fleischextrakt, 10 g Pepton, 5 g NaCl, 10 g Dextrose und 20 ccm einer 0,3%igen Phenolrotlösung, der kurz vor dem Gebrauch etwa 0,2% Agar und 30% Ascites zugefügt wurde.
Um die Penicillinempfindlichkeit eines Gonokokken-Stammes zu prüfen, benötigten wir immer 9 Reagenzgläser à 2 ccm Bouillon.
Aus einer Verdünnungsreihe von Penicillin (s. Tabelle 2) entnahmen wir 2 ccm der Lösung mit der Konzentration 1 E/ccm und gaben es zu dem 1. Glas Bouillon unserer Testreihe; somit erhielten wir hier ein Testmedium mit der Konzentration 0,5 E/ccm.

Tabelle 2

(Die Testampullen der Farbwerke Hoechst AG. enthalten 1o ooo E Penicillin.)

1) 1o ooo E in 1o ccm Aqua dest. gelöst = 1ooo E/ccm
2) 9 ccm Aqua dest. + 1 ccm von Nr. 1) = 1oo E/ccm
3) 9 " " " + 1 " " " 2) = 1o E/ccm
4) 9 " " " + 1 " " " 3) = 1 E/ccm

2ccm aus dem 1. Röhrchen wurden überpipettiert in das 2. Glas, wodurch hier eine Konzentration von o,25 E/ccm entstand. Auf diese Art und Weise stellten wir eine Testreihe mit fallenden Penicillinkonzentrationen in 8 Reagenzgläsern her, wobei jeweils das folgende Röhrchen die Hälfte an Penicillin des vorhergehenden enthielt.

1. Glas o,5 E/ccm
2. " o,25 E/ccm
3. " o,125 E/ccm
4. " o,o62 E/ccm
5. " o,o31 E/ccm
6. " o,o16 E/ccm
7. " o,oo8 E/ccm
8. " o,oo4 E/ccm

Ein 9. Glas ohne Penicillinzusatz diente zur Stammkontrolle. Allen 9 Gläsern wurden aus einer Pipette 3 Tropfen der zu testenden Gonokokkenaufschwemmung zugegeben.
Nach einer Bebrütung von 48 Stunden konnten wir ablesen, bei welcher Penicillinkonzentration das Wachstum der Keime

gerade noch gehemmt wurde.In den Röhrchen ,in denen die Gonokokken überlebten und die Dextrose vergarten,schlug der Farbindikator durch die Säurebildung um.
So zeigte uns das erste rote Röhrchen,welches auf die gelben folgte,die Grenzkonzentration an als Wert für die Empfindlichkeit dieses Stammes.
Stämme,die außergewöhnliche Werte zeigten,wurden ein zweites Mal identifiziert und getestet.

DIE ERGEBNISSE DER ÜBERPRÜFUNG DER PENICILLINSENSIBILITÄT DER GONOKOKKEN.

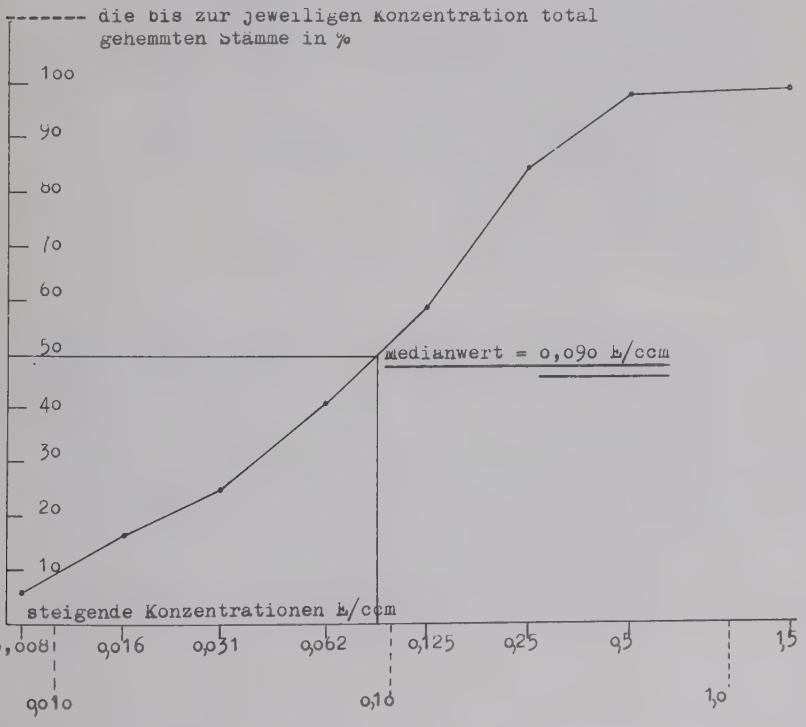
Aus der Tabelle 3 können wir entnehmen,welche Anzahl von Gonokokken-Stämmen bei der jeweiligen Konzentration total gehemmt wurden.Wir konnten keinen Gonokokken-Stamm beobachten,der in einem Testmedium mit der Konzentration 0,004 E/ccm getötet wurde.

Tabelle 3

	E/ccm	0,008	0,016	0,031	0,062	0,125	0,25	0,5	1,5
1)	Zahl der Go-Stämme, die bei der jeweilig. Konz. total gehemmt w.	6	11	8	16	18	26	14	1
2)	Zahl der gesamten Go-Stämme,die bis zur jeweilig.Konz.gehemmt w.	6	17	25	41	59	85	99	100
3)	2) in % ausgedrückt	6%	17%	25%	41%	59%	85%	99%	100%

Bei einer Konzentration von 0,008 E/ccm waren es 6 der 100 getesteten Stämme, bei 0,016 E/ccm 11 Stämme, bei 0,031 E/ccm 8, bei 0,062 E/ccm 16 Stämme, bei der Konzentration 0,0125 E/ccm 18 Stämme, bei 0,25 E/ccm 26 , und bei 0,5 E/ccm waren es 14 Stämme. Es ergaben sich also Hemmwerte zwischen 0,008 E/ccm und 0,05 E/ccm.
Ein Stamm mit der Versuchsnummer 145, über den wir später ausführlicher berichten werden, zeigte eine außergewöhnlich hohe Unempfindlichkeit und konnte erst bei einer Konzentration von 1,5 E/ccm total gehemmt werden.

Tabelle 4



Bei der Berechnung des Mittelwertes, dem sogenannten Schwerpunkt der Grenzkonzentrationen wurde der Stamm Nr. 145 nicht mitgezählt. Bei den übrigen 99 Stämmen wurde im Mittel bei der Konzentration 0,164 E/ccm eine totale Wachstumshemmung erzielt.
Der Medianwert, d.h. die Konzentration, die ausreicht, um 50% der gesamten Stamme zu töten, wurde graphisch auf Wahrscheinlichkeitspapier mit logarithmischer Abszissenskala ermittelt und ergab für die 100 Stamme 0,090 E/ccm.

Der Gonokokken-Stamm mit der Versuchsnummer 145, der eine starke Unempfindlichkeit zeigte, wurde zweimal als rein identifiziert und auf seine Sensibilität dem Penicillin und dem Celbenine, bzw. dem Cinopenil gegenüber untersucht. Die Penicillin-Testreihen ergaben beide Male die außerordentlich hohe Grenzkonzentration von 1,5 E/ccm.
Das Celbenine hemmte das Wachstum des Stammes bei einer Konzentration von 2,5 E/ccm.
Die folgende Tabelle zeigt schematisch noch einmal die Testergebnisse:

Tabelle 5

E/ccm	4	3,5	3	2,5	2	1,5	1	0,75	0,5	Grenz-konz.
Penicillin	—	—	—	—	—	—	+	+	+	1,5
Celbenine	—	—	—	—	+	+	+	+	+	2,5

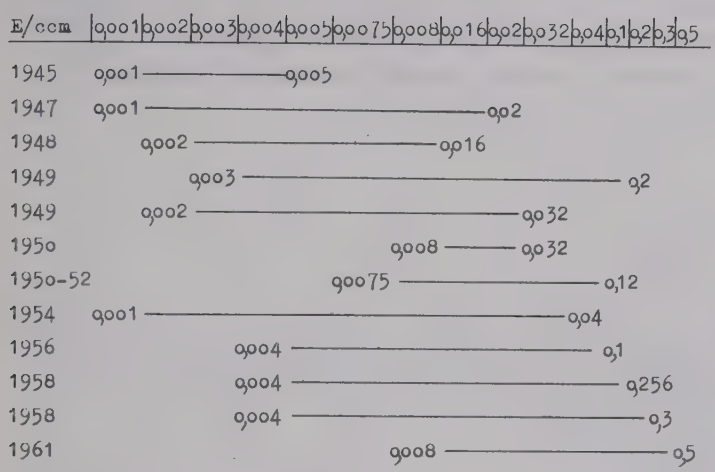
Es wurden einige Tropfen von den flüssigen Kulturen der Testreihen zur Kontrolle auf einen festen Nährboden geimpft und die darauf wachsenden Kulturen als reine Gonokokken gefunden.
Klinisch handelte es sich um eine verschleppte Gonorrhoe, die ausgeheilt werden konnte mit einer kombinierten Penicillin-Pyrexal-Kur von insgesamt 12 Millionen Einheiten Depot-Penicillin. Das Pyrexal wurde gesteigert von 0,4γ auf 0,7γ .
Die Kur dauerte 10 Tage, doch bereits am 4. Tage nach Therapiebeginn war der kulturelle Befund negativ.

E I N V E R G L E I C H V O N V E R S U C H S E R G E B - N I S S E N A U S D E N J A H R E N 1945 - 1961 .

Wenn wir die Ergebnisse unserer Experimente aus dem 1. Halbjahr 1961 vergleichen mit früheren Untersuchungen aus den Jahren 1945 - 1958 , so besteht kein Zweifel darüber, daß sich eine allerdings sehr langsame Entwicklung einer Empfindlichkeitsminderung der Gonokokken gegenüber Penicillin entwickelt hat.
1945 geben Ben del Love und M. Finland (15) für 24 Stämme Empfindlichkeitswerte zwischen 0,001 E/ccm und 0,005 E/ccm an, 1947 lag die Empfindlichkeit bei 104 Stämmen zwischen 0,001 E/ccm und 0,02 E/ccm und 1949 bei 52 Stämmen zwischen 0,003 E/ccm und 0,2 E/ccm.
Das langsame Auftreten von etwas resistenteren Keimen zeigen auch Storck und Kinderknecht durch ihre Versuchsergebnisse. 1948 testeten sie 29 Stämme, deren Wachstumsgrenzen zwischen 0,002 E/ccm und 0,016 E/ccm lagen,

1949 lagen diese bei 78 Stämmen zwischen o,oo2 E/ccmund o,o32 E/ccm und 1950 zwischen o,oo8 und o,o32 E/ccm.
Schreus und Schümmer (19) erhielten in den Jahren 1949-52 Wachstumsgrenzen von o,oo2 E/ccm bis o,128 E/ccm.
Marcuse und Hussels (5) fanden in den Jahren 1950 - 1952 Grenzwerte zwischen o,oo75 E/ccm und o,12 E/ccm,wobei der Großteil der Stamme eine Empfindlichkeit von 0,03 E/ccm zeigte.
1954 wurde von Gartmann und Knapp (6) die Penicillinempfindlichkeit von 48 Stammen von o,oo1 - o,o4 E/ccm beschrieben.
Marchionini und Köckl (1o) berichten 1957 von Hemmkonzentrationen zwischen o,oo4 und o,o4 E/ccm.
Die Hemmwerte von 12o Gonokokken-Stämmen,die Granits-Thurner (16) 1958 bringt,liegen zwischen o,oo4 E/ccm und 0,256 E/ccm.
In der Tabelle 6 sind die Ergebnisse der Untersuchungen von 1945 - 61 zusammengefaßt.

Tabelle 6



Beim Betrachten dieser Aufstellung darf nicht übersehen werden, daß in den einzelnen Laboratorien verschiedene Untersuchungsmethoden angewendet wurden, wie z.B. das Ansetzen der Testreihen auf festem oder im halbflüssigen Nährboden. Somit müssen geringe Abweichungen bei verschiedenen Ergebnissen im gleichen Zeitraum einkalkuliert werden.
Ein Vergleich unserer Ergebnisse von 1961 mit den Hemmkonzentrationen von Röckl in den Jahren 1956 und 1958 ist besonders günstig, weil alle Untersuchungen im dickflüssigen Nährmedium angesetzt wurden.
Tabelle 7 zeigt schematisch diesen Vergleich und auf der Tabelle 8 werden die Mittelwerte und Medianwerte der 3 Versuchskollektive einander gegenübergestellt.
Ein Vergleich der graphischen Darstellungen der Anzahl (in Prozenten ausgedrückt) der gesamten Gonokokken-Stämme,

die bis zur jeweiligen Konzentration total gehemmt wurden aus den Jahren 1956 und 58 (Röckl) und 1961 (unsere Experimente) zeigen die Entwicklung besonders deutlich.
Die Zunahme an penicillinunempfindlicheren Stämmen ist offensichtlich. (s.Tabelle 9)

Tabelle 7

Röckl gibt an:										
E/ccm		0,004	0,01	0,02	0,03	0,04	0,05	0,1	0,2	0,3
Gesamte bis zur jeweil. Konz. total gehemmten Stämme in %	1956	27	84	96		98		100		
" " "	1958	6	29	64	80	86	90	92	98	100

E/ccm		0,008	0,016	0,031	0,062	0,125	0,25	0,5
Zum Vergleich unsere Versuche	1961	6	17	25	41	59	85	99

Tabelle 8

	Röckl 1956	Röckl 1958	unsere Versuche 1961
Mittelwerte	0,0074 E/ccm	0,0218 E/ccm	0,164 E/ccm
Medianwerte	0,0058 E/ccm	0,0150 E/ccm	0,090 E/ccm

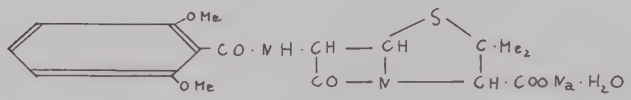
Tabelle 9

die bis zur jeweiligen Konzentration total gehemmten Stämme in %
100
90
80
70
60
50
40
30
20
10
1956 (Röckl)
1958 (Röckl)
1961 unsere Experimente
Medianwerte
steigende Konzentrationen E/cm
1,5
1
0,5
0,3
0,25
0,2
0,125
0,091
0,09
0,062
0,05
0,04
0,031
0,03
0,02
0,016
0,015
0,01
0,008
0,0058
0,004
0,001

D A S C E L B E N I N E (C I N O P E N I L).

Nachdem wir die Ergebnisse der Penicillintestreihen gesehen haben,ist es interessant zu wissen,wie sich die Gonokokken einem neuen synthetischen Penicillin,dem Celbenine gegenüber verhalten,ob allgemein eine gute Sensibilität gegen dieses Antibioticum vorhanden ist und ob für penicillinunempfindlichere Stämme auch eine höhere Dosis Celbenine zur Abtötung notwendig ist.
Das Celbenine wurde in den Laboratorien der Firma Beecham,Brentford in England,von einer Forschergruppe gefunden;die ersten Mitteilungen darüber erschienen von Knudsen und Kolinson.
Die Farbwerke Hoechst AG. bringen das Antibioticum unter dem Namen "Cinopenil" in Lizenz von den "Beecham Laboratories" heraus und geben an,daß stöchiometrisch 1 E bzw. 1γ Cinopenil = 0,905 E Penicillin-G entspräche, biologisch sei es ca. 5ofach geringer wirksam als Penicillin.

Das Celbenine ist chemisch das Natriumsalz des 6-(2,6-Dimethoxybenzamino)-Penicillansäure-Monohydrates.
Es hat die Strukturformel:



L.P.Garrod,London,(2o) und E.T.Knudsen,London,(21) beschreiben das Celbenine als wirksam gegen die grampositiven und weniger wirksam den gramnegativen Keimen gegenüber.

Für eine Therapie der Gonorrhoe mit Celbenine ist nach Garrods Angaben eine 8mal größere Dosis notwendig als beim Penicillin-G-Natrium.

Knudsen sieht die Vorteile des Celbenines darin, daß es

1. vollkommen penicillinasestabil ist, das bedeutet, daß es in Gegenwart von penicillinasebildenden Staphylokokken die gleiche Wirksamkeit hat;
2. zeigt es sich gleichbleibend aktiv bei penicillinresistenten Staphylokokken wie bei penicillinsensiblen Stämmen;
3. ist es nicht toxisch, wie es bei anderen Antibiotica der Fall sein kann, die bei Infektionen mit penicillinresistenten Staphylokokken eingesetzt werden.

Wir haben einen Kontrollversuch in einem flüssigen Nährboden vorgenommen an einem Teststamm - Staphylokokkus aureus hämoyticus - und bestätigt gefunden, daß eine große Differenz besteht zwischen den Konzentrationen von Celbenine und Penicillin-G-Natrium, die notwendig sind, um die Keime abzutöten.

Tabelle 1o

Grenzkonz.	1 γ	0,5 γ	0,25 γ	0,125 γ	0,062 γ	0,031 γ	0,015 γ	0,007 γ	Celbenine
" 1 γ	⊖	+	+	+	+	+	+	+	"
Grenzkonz.	1,6 E	0,8 E	0,4 E	0,2 E	0,1 E	0,05 E	0,025 E	0,012 E	Pe-G-Natrium
"0,05 E/ccm	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	⊖	+	+	"

Aus der Testung geht hervor,daß bei der Abtötung des Staphylokokken-Stammes Celbenine 2ofach geringer wirksam war als Penicillin-G-Natrium.

VERSUCHSANORDNUNGEN FÜR DIE CELBENINETESTREIHEN.

Unsere Versuchsanordnungen zur Überprüfung der Gonokokkensensibilität dem Celbenine gegenüber waren die gleichen wie bei den Penicillintestreihen.
Nach der Identifizierung der Gonokokken-Stämme wurden flüssige Kulturen angelegt und nach 48 Stunden die Keime im halbflüssigen Nährmedium getestet.
Es wurden 2o Gonokokken-Stämme kontrolliert ,jeder Stamm gleichzeitig in einer Testreihe mit abfallenden Penicillinkonzentrationen und in einer Testreihe mit abfallenden Celbeninekonzentrationen,um die Wirksamkeit der beiden Antibiotica vergleichen zu können.
Das Celbenine,bzw. Cinopenil stand uns in Testflaschen à 4o ooo E bzw. γ der Farbwerke Hoechst zur Verfügung.

Tabelle 11 zeigt die Verdünnungsreihe:

| | | |

testreihen mit abfallenden Konzentrationen,die in gleicher Weise hergestellt wurden wie die Penicillinversuchsreihen.

Tabelle 12

1. Ausgangslösung 4 E/ccm
   1.Röhrchen 2 E/ccm
   2. " 1 E/ccm
   3. " o,5 E/ccm
   4. " o,25 E/ccm
   5. " o,125 E/ccm

2. Ausgangslösung 1o E/ccm:
   o,6 ccm der 2.Ausgangsl.+o,4 ccm Aqua dest. = 3 E/ccm
   o,5 ccm " " +o,5 ccm " " = 2,5 E/ccm

Jeder Gonokokken-Stamm wurde in einer Reihe getestet mit den Konzentrationen:
E/ccm --- 3 / 2,5 / 2 / 1,5 / 1 / o,5 / o,25 / o,125

DIE ERGEBNISSE DER ÜBERPRÜFUNG DER CELBENINEMPFINDLICHKEIT DER GONOKOKKEN.

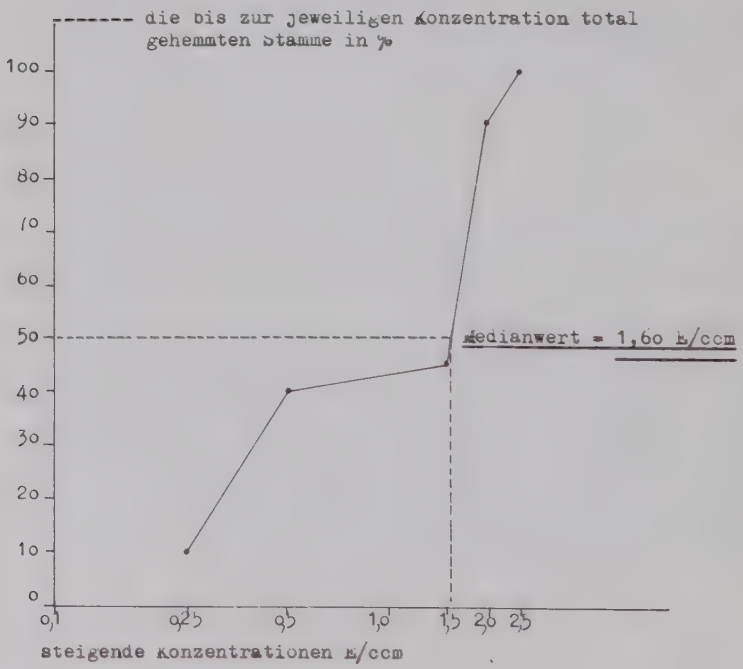
Als höchste Grenzkonzentration wurde 2,5 E/ccm gefunden, als niedrigste o,25 E/ccm. 2 Gonokokken-Stämme wurden in dem Nährmedium mit der Celbeninekonzentration o,25 E/ccm total gehemmt,6 Stämme bei o,5 E/ccm,bei 1,5 E/ccm war es 1 Stamm, bei 2 E/ccm waren es 2, bei 2,5 E/ccm 2 der getesteten 2o Gonokokken-Stämme.

Tabelle 13

	E/ccm	0,25	0,5	1,5	2,0	2,5
1)	Zahl der Co-Stämme, die bei der jeweiligen Konzentration total gehemmt wurden	2	6	1	9	2
2)	Zahl der gesamten Co-Stämme, die bis zur jew. Konz. total gehemmt wurden.	2	8	9	18	20
3)	2) in % ausgedrückt	10%	40%	45%	90%	100%

Der Mittelwert der Grenzkonzentrationen beträgt 1,40 E/ccm, der graphisch ermittelte Medianwert 1,60 E/ccm. (s. Tab. 14)

Tabelle 14



VERGLEICH DER GRENZKONZENTRATIONEN DER PENICILLINTESTREIHEN MIT DENEN DER CELBENINETESTUNG.

Vergleich an 2o Stämmen,die getestet wurden:

Tabelle 15

Stamm-Nr.	Grenzkonzentrationen E/ccm Penicillin	Celbenine	Zahl,um die Celbenine geringer wirksam ist als Penicillin
145	1,5	2,5	1,67
152	o,125	2,o	16
153	o,25	2,o	8
156	o,5	2,o	4
157	o,25	o,5	2
158	o,125	o,5	4
159	o,5	1,5	3
162	o,125	2,o	16
163	o,25	o,5	2
164	o,25	2,o	8
166	o,25	2,5	1o
167	o,5	2,o	4
169	o,25	2,o	8
17o	o,o62	2,o	32,3
171	o,5	2,o	4
172	o,o62	o,5	8,1
173	o,oo8	o,5	62,5
175	o,o62	o,25	4
177	o,125	o,5	4
178	o,o16	o,25	15,6

Aus der Tabelle 15 , auf der die Grenzkonzentrationen der Celbenine- und der Penicillintestreihen der 2o Gonokokken-Stämme nebeneinander gestellt wurden,geht hervor,daß keine bestimmte Relation zwischen den Wachstumsgrenzen

bei den beiden Antibiotica besteht. Es ist nicht so, daß für einen Gonokokken-Stamm, der eine besonders große oder niedrige Dosis Penicillin zur Abtötung benötigt, auch eine besonders große oder geringe Dosis Celbenine gebraucht wird.
Eine Penicillinresistenzzunahme der Gonokokken braucht also nicht einherzugehen mit einer Empfindlichkeitsminderung dem Celbenine gegenüber.

Bei 6 Stämmen war Celbenine 4mal geringer wirksam = 30% als Penicillin
" 4 " " " 8 " " " = 20%
" 3 " " " 2 " " " = 15%
" 3 " " " 16 " " " = 15%
" 1 " " " 3 " " "
" 1 " " " 10 " " "
" 1 " " " 32 " " "
" 1 " " " 63 " " " } = 5% jeweils

Im Mittel erhält man eine 6,8 fach geringere Wirksamkeit, wenn man die Stämme Nr. 1/o und 1/3 mit den außergewöhnlichen Ergebnissen fortläßt.
Setzt man die beiden Mittelwerte der Grenzkonzentrationen von Penicillin = o,19 E/ccm und Celbenine = 1,4 E/ccm in Beziehung miteinander, so ergibt sich, daß Celbenine 7,4 mal geringer wirksam bei der Abtötung von Gonokokken ist als das Penicillin-G-Natrium.
Mit diesem Ergebnis werden die Angaben von Garrods (19) über eine 8 mal geringere Wirksamkeit des Celbenines bestätigt.

Z U S A M M E N F A S S U N G :

1) Zu Anfang wurde über Möglichkeiten für ein Resistentwerden der Gonokokken berichtet und
2) über die Voraussagen verschiedener Autoren für die Entwicklung der Gonokokkensensibilität dem Penicillin-G-Natrium gegenüber.
3) Es wurden die Nährböden, die Diagnostik der Gonokokken und die Versuchsanordnungen beschrieben.
4) Als Ergebnis unserer Experimente zur Überprüfung der Penicillinsensibilität von 1oo Gonokokken-Stämmen erhielten wir Hemmwerte zwischen o,oo8 E/ccm und o,5 E/ccm. Der Mittelwert der Grenzkonzentrationen betrug o,164 E/ccm, der graphisch ermittelte Medianwert o,o9o E/ccm. Über einen Stamm mit dem Hemmwert 1,5 E/ccm wurde gesondert berichtet.
5) Die Ergebnisse unserer Experimente aus dem 1.Halbjahr 1961 wurden verglichen mit Untersuchungen aus den Jahren 1945 - 1958. Der Vergleich zeigt deutlich, daß eine Zunahme an penicillinunempfindlicheren Gonokokken-Stämmen vorhanden ist.
6) Es wurde über die Chemie und die Eigenschaften eines neuen synthetischen Penicillins, dem Celbenine berichtet und
7) die Versuchsanordnung zur Überprüfung der Gonokokkensensibilität diesem Antibioticum gegenüber beschrieben.
8) Die höchste Grenzkonzentration von 2o getesteten Gonokokken-Stämmen betrug 2,5 E/ccm, die niedrigste o,25 E/ccm. Als Mittelwert erhielten wir 1,4o E/ccm, als Medianwert 1,6o E/ccm.

9) 2o Gonokokken-Stämme wurden gleichzeitig auf ihre Empfindlichkeit dem Penicillin-G-Natrium und dem Celbenine gegenüber untersucht.
Es ergab sich keine bestimmte Relation zwischen den Hemmwerten der beiden Antibiotica.

1o) Unsere Versuche zeigten, daß Celbenine im Mittel 7,4 mal geringer wirksam ist als das Penicillin-G-Natrium bei der Abtötung der Gonokokken.

L I T E R A T U R V E R Z E I C H N I S

(1) Schuermann: "Sulfonamide und Antibiotica bei Gonorrhoe."
-Zentralblatt für Haut-und Geschlechtskrankheiten,Bd 74,11; 1950

(2) Marcuse und Hussels: "Untersuchungen zur Penicillintherapie der Gonorrhoe."
-Deutsches Medizinisches Journal,Bd 6, 163-165 1955

(3) Kimmig: "Die Paraaminobenzoesäure und die Wirkung der Sulfonamide."
-Klinische Wochenschrift,22:2,31 ; 1943

(4) Meyer-Rohn: "Experimentelle Untersuchungen zur Antibiotica-Resistenz von Neisseria gonorrhoeae."
-Der Hautarzt, 9:2,81-84 ; 1958

(5) Marcuse und Hussels:"Zur Frage der Penicillinempfindlichkeit der Gonokokken."
-Dermatologische Wochenschrift,Bd 130,1031 ; 1954

(6) Gartmann und Knapp:"Zur Frage der Empfindlichkeitsabnahme der Gonokokken gegenüber Penicillin in vivo und in vitro."
-Dermatologische Wochenschrift,Bd 130,833-837 1954

(7) Hämel: "Zum Problem der Bakterienresistenz bei Sulfonamiden und Penicillin.
-Medizinische Klinik,Bd 1,24-26 ; 1955

(8) Storck,Rinderknecht und Flury: "Über Penicillinresistenz von Gonokokken,"Pseudogonokokken" und Staphylokokken."
-Dermatologica Basel,Bd 103,243-258 ; 1951

(9) K.Hoede und M.Hoede: "Penicillinversager?"
-Zeitschrift für Haut-und Geschlechtskrankheiten,Bd 2,12 ; 1947

(1o) Marchionini und Höckl: "Ätiologie,Diagnose,Therapie der gonorrhoischen und nichtgonorrhoischen Urethritiden."
-Münchner Medizinische Wochenschrift 99,6,173 1957

(11) Meyer-Rohn und Lehmann: ""Penicillinresistente" Gonorrhoe durch Penicillinasebildner."
-Dermatologische Wochenschrift 142; 196o

(12) Schönfeld und Kimmig: "Sulfonamide und Penicilline."
-erschienen im F.Enke-Verlag,Stuttgart 1948

(13) Siebert: "Penicillinversager bei der Gonorrhoe in der Sicht des Bakteriologen."
-Medizinische Klinik, 43,1889; 1957

(14) Meyer-Rohn und Rhode: "Phagozytierte Gonokokken in der Gewebekultur und ihr Vernalten gegenüber Penicillin."
-Der Hautarzt, 12:8 , 373 - 375 , 1961

(15) Ben del Love und M.Finland: "Susceptibility of Neisseria gonorrhoeae to eleven Antbiotics and Sulfadiazine."
-Archives of international Medicine,Bd 95,155

(16) Granits-Thurner:"Über derzeitige Penicillinempfindlichkeit der Neisseria gonorrhoeae."
-Der Hautarzt,Bd 9, 414; 1958

(17) Schreus und Schümmer: "Ändert sich die Penicillinempfindlichkeit der Gonokokken?"
-Zeitschrift für Haut-und Geschlechtskrankheiten ,Bd 14 , 373 ; 1953

(18) Röckl: "Nimmt die Penicillinempfindlichkeit der Gonokokken ab?"
-Münchner Medizinische Wochenschrift 1o1,7o8; 1959

(19) Schreus und Schümmer: "Ändert sich die Penicillinempfindlichkeit der Gonokokken?"
-Zeitschrift für Haut- und Geschlechtskrankheiten, Bd 11,229 ; 1951

(2o) Garrod: "L'action antibactérienne comparative de différentes pénicillines."
-Médecine et Hygiène , Journal d'informations médicales, Genève, Nr. 476,665-667; 196o

(21) Knudsen: "Les pénicillines synthétiques."
-Médecine et Hygiène, Journal d'informations médicales, Genève, Nr. 476,667-67o; 196o

L E B E N S L A U F

Am 29.1o.34 wurde ich, I n g e b o r g B ä ä t j e r , in Hamburg als Tochter des Hermann Bäätjer und seiner Ehefrau Inge geboren.

Nach der Evakuierung aus Hamburg besuchte ich die Grundschule in Kellinghusen / Mittelholstein, anschließend in Itzehoe die Auguste Viktoria-Schule, Oberschule für Mädchen, an der ich am 17. Februar 1955 die Reifeprüfung bestand.

Im Mai 1955 begann ich an der Universität der Freien und Hansestadt Hamburg mein Studium der Zahnmedizin.

Ich blieb für alle vorklinischen und klinischen Semester in Hamburg immatrikuliert.

Am 7. März 1958 legte ich die zahnärztliche Vorprüfung ab; am 25. November 196o bestand ich die zahnärztliche Prüfung und erhielt die Bestallung als Zahnärztin.

Von Anfang Januar bis Mitte Juli 1961 arbeitete ich in dem bakteriologischen Labor der Universitäts-Hautklinik Eppendorf für meine Dissertation.

Jetzt bin ich seit dem 1. August 1961 in einer zahnärztlichen Praxis als Assistentin tätig.

Druck: Photo-Copie GmbH Hamburg 1